



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Kemisk stimulering av libido hos hingst

Matilda Nilsson

Uppsala

2010

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN
Examensarbete 2010:71*

Kemisk stimulering av libido hos hingst

Matilda Nilsson

Handledare: Anne-Marie Dalin, Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Biträdande handledare: Kristina Nordéus, Institutionen för Kliniska Vetenskaper

Examinator: Bernt Jones, Institutionen för Kliniska Vetenskaper

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2009
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper
Kurskod: EX0239, Nivå X, 30hp*

Nyckelord: feromoner, urin, p-cresol, hingst, libido

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2010:71*

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Feromoner	3
Beskrivning	3
Vomeronasala organet	4
Brunstcykel sto	6
Proöstrus.....	6
Östrus	6
Metöstrus.....	6
Diöstrus	6
Anöstrus	7
Endokrinologi.....	7
Hingstens parningsbeteende.....	8
Sexuellt beteende hos hingst och sto	8
Domesticerade respektive vilda hästar.....	9
Tjurars och hingstars identifiering av brunstiga hondjur	10
Flehmen.....	10
Nossekret.....	11
Syfte med studien.....	12
Material och Metoder	12
Djurmaterial	12
Insamling av urin.....	12
P-cresol.....	12
Förberedelse av testsubstanserna.....	12
Försöket.....	13
Substanserna.....	13
Utrustning.....	13
Exponering	14
Statistiska analyser	14
Resultat	15
Diskussion.....	20
Slutsatser.....	22
Tack	23
Litteraturförteckning.....	24

SAMMANFATTNING

Feromoner är en typ av doftämnen som utsöndras av djur och insekter. Mycket forskning har gjorts om deras roll hos insekter men först under de senaste decennierna har man intresserat sig för deras roll hos däggdjur. Hos häst råder det delade meningar om hingstar verkligen kan avgöra var i reproduktionscykeln ett sto är och vad i urinen som i så fall avslöjar reproduktionsstatus för hingsten.

Syftet med den här studien var att undersöka om hingstar känner skillnad på brunsturin och diöstrusurin och om det i så fall är den kemiska substansen *p-cresol* som får hingsten sexuellt intresserad.

I försöket användes fem hingstar som exponerades i fem minuter för substanserna brunsturin, diöstrusurin, diöstrusurin med *p-cresol*, destillerat vatten med *p-cresol* samt destillerat vatten, en substans per dag. Provsustanserna var kodade a-e där ordningen för exponering valdes slumpvis och alla hingstarna exponerades för samma substans under samma dag. Vid försöket användes ett protokoll där följande beteendeparametrar hos hingstarna observerades: antal flehmen, utskäftningar penis (0-3) samt sekretion från nos och mun (gradering 0-3), antal nosningar och tid hästen nosade på provet.

Resultaten visade att hingstar inte kan känna skillnad på brunsturin och diöstrusurin men att de visade ett signifikant större intresse för urin än för destillerat vatten samt att *p-cresol* inte var ett ämne som fick hingstarna sexuellt intresserade. Typ av substans inverkar signifikant på antal flehmen. Det fanns en tendens till signifikant skillnad mellan hingstarna vad gäller antal nosningar och antal flehmen men inte för grad av sekretion eller för grad av utskäftning. Det fanns en signifikant numeriskt positiv korrelation mellan tiden hingsten nosade, antal nosningar samt antal flehmen. Likaså observerades signifikant positiv korrelation mellan sekretionsklass och antal flehmen, samt mellan sekretionsklass och grad av utskäftning.

Konklusion: Hingstar kan enligt vår studie inte känna skillnad på brunsturin och diöstrusurin. Det tycks inte heller vara endast *p-cresol* som gör hingsten sexuellt intresserad. Ytterligare studier är av intresse då man i denna studie inte helt kan utesluta att *p-cresol* är ett ämne med feromoneffekt, men att det kräver andra ämnen för att få optimal sexuell respons från hingstarna.

SUMMARY

Pheromones are a type of chemical signals secreted by animals and insects. A great number of studies have investigated their role in insects. In recent decades, there has also been interest in their role in mammals. In horses, investigators are not sure whether stallions can actually determine the reproductive cycle stage of the mare and, if so, what it is in the urine that reveals the stage to the stallion.

The aim of this study was to investigate whether the stallions can discriminate between estrous and diestrous urine and if so, if it is the chemical substance *p-cresol* that makes the stallion sexually interested.

In the trial five stallions were exposed for five minutes to the following substances; estrous urine, diestrous urine, diestrous urine with *p-cresol*, distilled water with *p-cresol* and distilled water, one substance each day. Test substances were coded and the order of exposure was random and all stallions were exposed for the same substance on the same day. During the study a protocol was used and the following behavioural parameters of the stallions were recorded; number of flehmen, level of erection (0-3), level of secretion from the nose and mouth (0-3), the duration and the number of times it smelled the sample.

The results showed that stallions cannot differentiate estrous urine from diestrous urine but the stallions showed a significantly higher interest for urine than for distilled water. *P-cresol* was not the substance that got the stallions sexually interested. The type of substance had a significant influence on quantity of flehmen. There was a trend towards significant difference between stallions in number of flehmen and number of smells but not on the level of secretion, or level of erection. There was a significant positive correlation between the time the stallions smelled, the number of smells and the number of flehmen. Also, significant positive correlation between level of secretion and number of flehmen and between level of secretion and level of erection were observed.

Conclusion: In our study stallions were not able to discriminate between estrous and diestrous urine. *P-cresol* on its own does not seem to make stallions sexually interested. Further studies are of interest because in this study *p-cresol* cannot be entirely excluded as a substance with pheromonal effects, but that it requires other substances in order to obtain optimal sexual response from the stallions.

INLEDNING

Feromoner är en typ av doftämnen som djur och insekter utsöndrar för att kommunicera med varandra, t.ex. för att locka till sig sexuella partners, signalera att de är redo för parning eller för att ge ett hotfullt intryck. Många studier har gjorts om feromoners roll hos insekter men ännu har det inte gjorts lika många studier på däggdjur även om intresset och forskningen ökat sedan mitten av 70-talet.

Feromoner

Beskrivning

I en översiktsartikel har Rekwot et al. (2001) visat att kommunikation med hjälp av feromoner spelar en viktig roll för däggdjurens beteende och reproduktion. Brennan & Keverne (2004) definierade begreppet feromoner i vidare bemärkelse som "kemiska signaler som förmedlar information mellan individer av samma art". En smalare definition av begreppet är "luftburna kemiska substanser som hos djur av samma art medför endokrinologiska eller beteendemässiga förändringar" (review Brennan & Keverne, 2004). Feromoner utsöndras i urin, faeces eller från kutana körtlar och tas sedan upp av det olfaktoriska systemet hos djur inom samma art och framkallar en specifik reaktion (review Rekwot et al., 2001). Feromoner delas in i två undergrupper nämligen *releaser* och *primer* feromoner (review Brennan & Keverne, 2004). "Releaser"-feromoner, orsakar en omedelbar påverkan på beteendet medan "primer"-feromoner ger en neuroendokrin förändring och utveckling som går långsamt. Däggdjurens feromoner är komplexa och består av ämnen med olika strukturer, dessa kan vara både flyktiga och icke flyktiga (review Ferrero & Liberles, 2010).

Många djur och insekter känner igen individer av den egna arten genom dofter (Campbell et al., 2003). Inom insektsvärlden utsöndrar ofta en individ feromoner för att påverka en annan individ av samma art att förändra sitt beteende. Feromoner är alltså ett viktigt kommunikationsmedel mellan insekter av samma art (review Shorey, 1973). I insektskolonier är ofta kommunikationen baserad på feromoner där vissa individer utsöndrar feromoner vid en specifik tidpunkt för att därmed orsaka "rätt" beteende hos andra individer i kolonin. Avancerade system har utvecklats i insektskolonier där feromoner koordinerar gruppen så att allt fungerar. Förutom feromoners funktion för grupp-dynamiken används de också av insekter individuellt vid de tillfällen då det är fördelaktigt som t. ex vid parning. Izard (1983) menar att hos däggdjur påverkar även andra faktorer såsom hormonstatus, erfarenheter osv. beteendet, vilket gör att däggdjurens svar på en olfaktorisk signal kan vara mindre självklar än en insekts svar på feromoner. Hos däggdjur kan dessutom andra sinnen såsom beröring, syn eller hörsel ha betydelse i vissa sammanhang.

Hos gris är det väl känt att närvaron av en galt påskyndar puberteten hos gyltor och minskar intervallet mellan avvänjning och brunst hos suggor, vilka snabbare får follikeltillväxt i äggstockarna om en galt finns i närheten. Galtens närvaro stimulerar suggans frisättning av hormoner och neuropeptider som är inblandade i regleringen av LH (Kemp, 2005).

Baggar som introduceras till tackor under deras anöstrala säsong påskyndar brunstcykelns start och ger en viss synkronisering av brunsterna hos tackorna (review Rekwot et al., 2001).

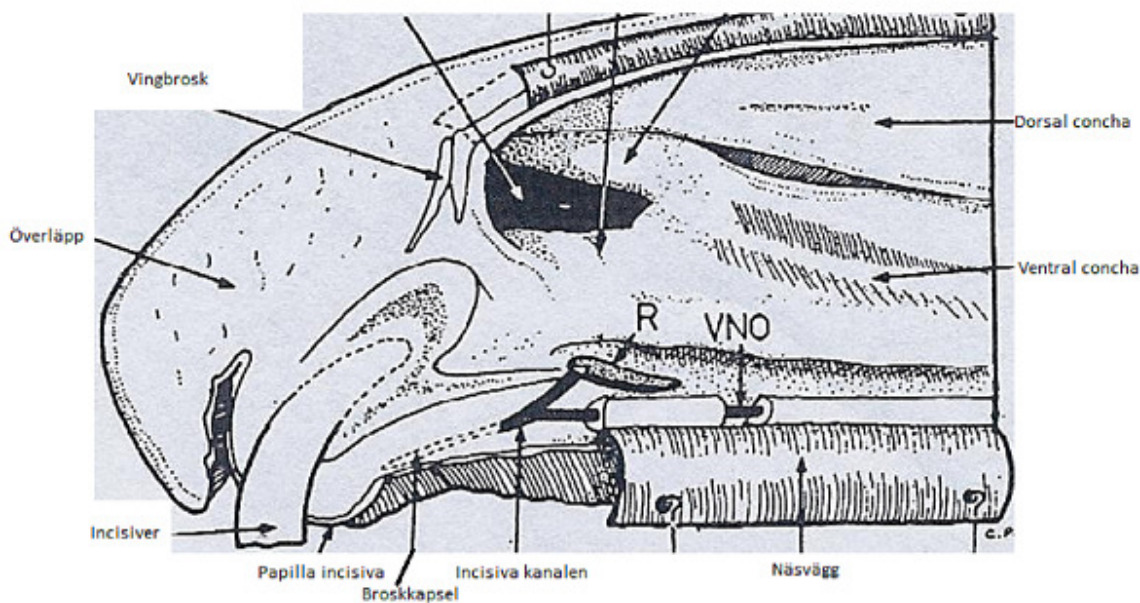
Rekwot et al. (2001) visade i en översiktsartikel att man inom nötrepoduktionen inte har en lika klar bild över betydelsen av "primer" feromonerna. I olika försök där tjurar har introducerats för prepubertala kvingor har resultaten varierat. I vissa fall har kvingorna blivit köns mogna tidigare och i andra fall inte. Hos kor har det visats att den anöstrala perioden efter förlossningen kan förkortas i närvaro av tjur.

Hondjur påverkar även varandra sinsemellan med feromoner. Nishimura et al. (1991) fann i en studie på kvingor att brunstslem innehåller individuellt präglade dofter. I studien smorde man in diöstrala kvingor med deras eget brunstslem samlat under tidigare brunst. Dessa djur blev i de flesta fall bestigna av andra kvingor i besättningen, medan kvingor som smordes in med brunstslem från andra individer inte blev bestigna.

I en studie från Litauen (opublicerad) fann man att den kemiska substansen *p-cresol* fanns i urinen hos sto vid brunst och en peak observerades vid ovulation. Därför ansåg man att *p-cresol* kunde ha en feromoneffekt. Man använde *p-cresol* i ett hingstförsök där man mätte erektionsgrad på hingstar och fann att erektionsgraden ökade vid tillsats av *p-cresol* till anöstrusurin från ston. Att hingstar inte gör skillnad på brunsturin och diöstrusurin har dock visats i en tidigare studie (Marinier et al. 1988).

Vomeronasala organet

De flesta däggdjur har förutom det primära luktsinnet något som kallas vomeronasala organet, VNO. VNO är ett välutvecklat system som anses ha en betydande roll vid överföring av kemiska signaler (review, Brennan & Kaverne, 2004). Hos häst är VNO beläget längs botten av näshålan och består av pariga kanaler som är ca 15-20 cm långa (figur 1) (Nickel et al., 1979). Dessa kanaler har både respiratorisk och olfaktorisk funktion. Kanalerna slutar blint kaudalt i hårda gommen men broskkapseln runt respektive kanal fortsätter i kranial riktning i submucosan och upphör precis dorsalt om papilla incisiva (Lindsay & Burton, 1983). På varje sida går den vomeronasala kanalen kranialt ihop med den incisiva kanalen.



Figur 1. Medial bild av hästens nasala kavitet, höger halva. Vomeronasala organet, VNO. Modifierad version efter Lindsay & Burton, 1983.

Luftströmmen utifrån når inte epitelet i VNO direkt utan molekylerna måste först dras in i organets hålrum (review, Trindelli et al. 2009). På sidorna om det vomeronasala hålrummet ligger blodkärl och andra mindre hålrum som innerveras av autonoma nervsystemet. Genom vasodilatation och vasokonstriktion uppstår en pumplik effekt. Denna effekt gör att stimulus når det vomeronasala hålrummet och det anses att flehmen främjar denna aktivitet. Till skillnad från många andra djurslag öppnar sig inte de incisiva kanalerna in i munhålan hos häst utan substanserna måste dras in via nashålan i VNO (Crowell-Davis & Houpt, 1985).

Hingstar visar sitt intresse för stoets genitalia genom att lukta, slicka och att trycka mulen mot perineala området. Även detta anses ha samband med VNO genom att organet har receptorer för vissa feromoner som finns i urin och vaginalsekret (review, Rekwot et al., 2001).

Den senaste forskningen visar att hos däggdjur är både det primära luktsinnet och VNO involverat vid kemisk kommunikation (review, Trindelli et al., 2009). Dessa två system är histologiskt lika men de har olika typer av receptorer och olika centrala områden i nervsystemet som mål. Det vomeronasala systemets sensoriska neuroner sänder via axoner signaler till den accessoriska luktbulben som sedan via amygdala når hypothalamus (ev. först via stria terminalis) och därmed påverkas det endokrina systemet. Det primära luktsinnets neuroner däremot når specifika områden av cortex piriformis och sedan det laterala preoptiska området och laterala hypothalamus (Estes, 1972).

Brunstcykel sto

Sto är säsongsmässigt polyöstrala vilket innebär att de har sin reproduktiva period med ägglossning (ovulation) under sommarhalvåret men det finns dock ston som har cyklisk äggstocksaktivitet året runt. Det som framförallt påverkar stoets säsongsmässighet är mängden dagsljus där en ökad mängd ljus startar cykliciteten hos stoet. Ljuset registreras av receptorer i ögats retina, vilka påverkar epifysen att minska melatoninproduktionen. Därmed stimuleras hypothalamus att frisätta mer GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon). GnRH stimulerar hypofysen att frisätta FSH (Follikel Stimulerande Hormon) och LH (Luteiniserande Hormon), vilket leder till follikeltillväxt, follikelmognad och slutligen ovulation. Stoets brunster startar under svenska förhållanden ofta i mars. Den första brunsten är oftast längre än brunsterna under sommaren och ovulationerna sker inte i normal frekvens. Under hösten avtar äggstocksaktiviteten och stoet når den anöstrala perioden. Brunstcykeln delas in i följande faser: proöstrus, östrus (brunst), metöstrus och diöstrus. Stoets brunstcykel varar ca 21 dagar (normal variation 18 – 24 d) där stoet är i diöstrus 14 dagar och i östrus ca 7 dagar.

Proöstrus

Proöstrus inträffar före östrus och under denna period sker tillväxt av dominanta folliklar i äggstockarna liksom tillbakabildning av föregående cykels gulkropp. Livmoderslemhinnan (endometriet) tillväxer något, blir blodfylld och ödematös och sekretoriska körtlar i vävnaden ökar i aktivitet. Slemhinnan i vestibulum får en lindrigt ökad rodnad (Ginther, 1992c). Sto i frihet söker under denna period mer kontakt med hingsten än under diöstrus (McDonnell, 2000). Under denna period är stoet ännu inte sexuellt mottaglig för hingsten.

Östrus

Brunsten styrs av östrogener som utsöndras av de växande, dominanta folliklarna. Under östrus är stoet mottagligt för hingsten och söker aktivt kontakt med denne. Ovulationen inträffar hos sto 24-48 timmar före brunstens slut. Östrogen stimulerar till ökad sekretion från körtlar i könsorganen, samt gör livmoderslemhinnan ödematös och hyperemisk och cervix slapp. Yttre tecken på brunst är att vulva blir svullen och vestibulum blir blank och laxrosa till färgen. Beteendet som ses hos sto under brunst orsakas av den ökande östrogenmängden, men sto kan även visa brunst utan förhöjd östrogennivå.

Metöstrus

Ovulation har skett och gulkroppen börjar bildas, men progesteronproduktionen är fortfarande låg. Denna period är kort hos ston (Ginther, 1992c).

Diöstrus

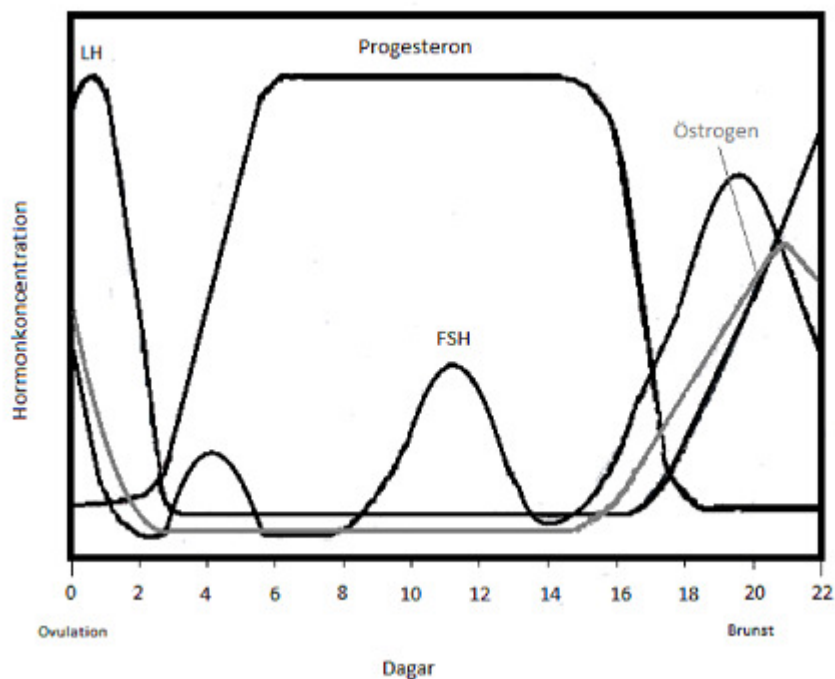
Under diöstrus ökar progesteronproduktion i samband med att en fullständig luteinisering av granulosa-cellerna sker. Granulosa-cellerna blir maximalt hypertrofierade och den hormonproducerande aktiviteten är som störst. Livmoderslemhinnans körtlar blir hyperplastiska och hypertrofierade. Gulkroppens livslängd är totalt cirka 14-15 dagar och detta bestämmer brunstcykelns längd. Yttre tecken på diöstrus är att vulva är rynkig och vestibulums slemhinna ljusrosa (Ginther, 1992c).

Anöstrus

Under vinterhalvåret är stoet oftast anöstralt och äggstockarna är då i normala fall små och bönformade, ca 5x3x2 cm. Under tidig vår och sen höst, de s.k. övergångsperioderna varierar äggstockarna i storlek beroende på antal och storlek av folliklar. Livmoderslemhinnan är under anöstrusperioden tunn och inaktiv beroende på att hormonnivåerna från äggstockarna är låga (Ginther, 1992b).

Endokrinologi

Brunstcykeln styrs av könshormoner som regleras av hypothalamus och hypofysen, samt av steroider som utsöndras av äggstockarna. FSH har en "peak" före brunst, vilken stimulerar tillväxt och selektion av dominant folliklar i primära follikelvågen. De dominant folliklarna producerar östrogen och inhibin som tillsammans genom en "feed-back"mekanism hämmar FSH-produktionen i hypofysen. Under inverkan av GnRH, som i sin tur stimulerats av östrogen, börjar LH öka före brunst och når sin maximala nivå en till två dagar efter ovulationen. Därefter sjunker nivåerna under fyra till sex dagar. Hos sto är alltså LH-nivåerna höga under cirka 10 dagar. FSH-nivåerna är låga fram till efter ovulationen och sedan varierar koncentrationen. Det kan komma en ökning redan direkt efter brunst. En ökning ses därefter under diöstrus när GnRH stimulerar frisättning. Östrogennivåerna i blodet stiger sex till åtta dagar före ovulation, när brunsten startar, och når sin maximala nivå ca två dagar före ovulation. Basala värden ses åter vid brunstens slut eller i samband med ovulation. Efter ovulationen startar luteiniseringsprocessen, vilken stimuleras av LH och leder till att gulkroppen bildas. Därmed inleds progesteronproduktionen. Progesteron är ett dräktighetsbevarande hormon som förbereder livmodern för dräktighet. Om inte stoet blir dräktigt tillbakabildas gulkroppen genom luteolys ungefär dag 14-16 i cykeln. Luteolysen orsakas av prostaglandin $F_{2\alpha}$ som produceras i livmoderslemhinnan.



Figur 2. En normal brunstcykels hormonförändringar hos häst. Modifierad version efter Crowell-Davis, 2007.

Hingstens parningsbeteende

Det mönster som utspelar sig när djur ska fortplanta sig varierar med djurslag. Både hormoner och beteende har betydelse i det sexuella parningsspelet. För att en hingst normalt ska visa sexuellt beteende krävs att denne är mottaglig för stimuli och att den kan få erektion (Anderson et al., 1996). Ett sto kräver oftast en hingst för att visa brunstbeteende, vilket skiljer stona från korna som visar brunst inför varandra. Hur hingsten svarar på stimuli från ett brunstigt sto beror på brunstens styrka men det varierar även från individ till individ. Ett brunstigt sto söker oftast upp hingsten för att väcka dennes sexuella intresse (Kiley-Worthington, 1997).

Sexuellt beteende hos hingst och sto

Hingstens libido (könsdrift) beror framför allt på androgena steroidhormoner, vilka påverkar parningsbeteendet men även aggressivitet. Androgena steroidhormoner upprätthåller också det hanliga reproduktionssystemets funktion. Hingstens beteende inför ett brunstigt sto varierar mellan individer (Ginther, 1992a). Även sto i brunst kan svara olika inför en hingst. En del visar tydliga brunsttecken, lyfter svans, blinkar med klitoris, skvätter urin samt ställer sig i parningsposition medan andra kan visa ett tydligt avvisande beteende, sparka och slå i de fall hingsten inte passar stoet (kan t.ex. ha fel färg eller vara ranglåg). Ett sto i brunst är ofta rastlöst och ökad rörelse ses under denna period. Parningsspelet hos frigående hästar inleds med att stoet väcker ett sexuellt intresse hos hingsten och de möts för att utforska varandra. Stoet luktar på hingstens perineum och skrotala område och hingsten i sin tur luktar och slickar stoet runt perineum samt nafsar eller biter stoet vid flanken eller över korset. När de uppvaktar varandra på detta sätt ses ett cirklande rörelsemönster. Det brunstiga stoet urinerar flertalet gånger i närheten av hingsten och hingsten i sin tur visar flehmenbeteende när han undersöker urinen under den inledande akten. Hingsten skaftar ut penisen och får

erektion. Uppvaktningen avslutas med att stoet, om hon är i brunst, visar mottaglighet och intar position för parning genom att stå stilla, vika svansen åt sidan och "blinka" med klitoris. Hingsten bestiger då stoet, söker med penis in i vagina och för fram och tillbaka penis (friktionskoitus) i vagina tills ejakulationsreflexen kommer. När betäckningen är över går stoet framåt så att hingsten inte behöver backa tillbaka för att komma av stoet.



Figur 3a. Inledande kontakt mellan hingst och sto. 3b. Hingsten nafsar på stoet som inledning på den sexuella kontakten. Foto: Matilda Nilsson

Domesticerade respektive vilda hästar

Vilda hästar lever i harem som består av en vuxen hingst, vilken står för betäckningarna, 5-10 vuxna ston och deras unga avkommer (McDonnell & Murray, 1995). Unga hingstar tvingas ut ur sitt harem runt puberteten och ansluter då till en egen grupp med ca 5-20 andra hingstar som lever tillsammans och är sexuellt inaktiva tills de eventuellt blir betäckande hingst i ett harem. Beteendet i hingstgrupperna speglas av både lekfulla men även riktiga strider och det finns en klar rangordning i gruppen. Skulle en betäckande hingst t.ex. avlida går en hingst från den inaktiva hingstgruppen in och blir ledare, dvs. betäckare i detta harem. Det är ovanligt att dessa hingstar försöker utmana en betäckande hingst, utan de lever på behörigt avstånd från ett harem. McDonnell och Murray (1995) visade i en studie att hingstar som lever tillsammans har lägre nivåer av testosteron i blodet än vad en betäckande hingst i ett harem har. Man såg också att om en hingst förflyttades till ett harem fick den en snabb ökning av testosteronkoncentration i blodet och denna nivå kvarstod tills hingsten flyttades tillbaka till hingstgruppen. Man fann även förändringar i sexuellt och aggressivt beteende, accessoriska könskörtlarnas storlek, testiklarnas storlek och karaktär samt sädesvätskans kvalitet. Alla dessa faktorer ökade när hingsten hade ett eget harem (McDonnell, 2000). Dessa förändringar i beteende och testosteronkoncentration tyder på att en social påverkan i samband med flytten till ett harem förstärker reproduktionsfunktionen hos hingsten eller, motsatt, ger en nedtryckning av denna om hingsten är i grupp med andra hingstar (McDonnell & Murray, 1995). Hingsten och stona i ett harem påverkar varandra året runt men med en tydlig skillnad under brunstperioderna då de kommunicerar betydligt oftare med varandra (McDonnell, 2000).

Uppfödda avelshingstar får till skillnad mot vilt levande haremshingstar oftast ingen kontakt alls eller mycket liten kontakt med ston precis innan parning. Trots detta fungerar många avelshingstar bra i sitt arbete och detta anses bero på att de har förmågan att svara på en låg stimulans genom träning, s.k. betingad reflex. Det finns dock hingstar med sämre könsdrift som kräver mer kontakt med sto för att fungera optimalt, t.ex. för att man ska kunna samla sperma för insemination. Detta kan åtgärdas exempelvis genom att ställa hingsten bredvid ett brunstigt sto eller att ha en längre stimuleringsperiod med ett brunstigt sto.

Tjurars och hingstars identifiering av brunstiga hondjur

Enligt en översiktsartikel av Rekwot et al (2001) spelar dofter hos nötkreatur troligen en mycket viktig roll för reproduktionen. I undersökningar har framkommit att tjurar attraheras och stimuleras av kornas brunsturin och brunstslem, men en tjur använder sig av flera sinnen för att avgöra om en ko är redo för betäckning. Förutom lukt påverkar även syn, hörsel och känsel. Sankar & Archunan (2008) identifierade tre, för ko, brunstspecifika kemiska substanser i urin respektive träck. Dessa substanser testades på tjurar med hjälp av s.k. "dummy cows" dvs. icke brunstiga kor vars område kring vulva smörjdes in med de olika kemiska komponenterna. Blandningen av dessa tre brunstspecifika ämnen gav en hög frekvens av parningsbeteende. Substanserna hade inte samma effekt var för sig vilket tydde på att kemiska ämnen från urin och träck kan interagera för att initiera parningsbeteendet hos tjuren och för att parningen genomförs.

En hingst kan känna doften av ett sto i brunst lång väg och visar det genom att flehma (Ma & Klemm, 1997). Flera studier har visat att urin är en viktig komponent när det gäller brunstsignaler och det anses att innehållet av olika kemiska signaler i urin kan variera under olika stadier av brunstcykeln. Enligt Lindsay & Burton, (1983) kan en hingst som undersöker urinen hos ett sto avgöra vilken reproduktionsstatus stoet har, dvs. brunst eller inte. Ma & Klemm (1997) beskriver att man i tidigare studier smörjt in urin från brunstiga ston på valacker och på ston som inte var i brunst och sett att hingstar visade beteenden såsom bestigning och parning trots att de dessförinnan inte visat något intresse alls. När en hingst känt lukten av ett brunstigt sto markerar denne ofta det med att urinera, troligtvis för att markera att han gör anspråk på stoet eller för att dölja doften av det brunstiga stoet för andra hingstar.

I en studie av Anderson et al. (1996) fann man dock att synen var viktigare än lukten för att hingstar skulle visa sexuellt beteende. Genom att testa hingstarna med förbundna ögon respektive täckt nos (näsborrharna smordes flera gånger in med Mentholatum samt täcktes under försöket med bomullsduk) observerades en tydlig förändring i beteendet. Frånvaro av synintryck visade sig påverka de olika sexuella beteendena hos hingst mer än frånvaron av lukt. Marinier et al. (1988) visade i en studie att antalet flehmen hos hingstar när de exponerades för brunsturin respektive diöstrusurin inte skiljde sig signifikant. I en annan studie observerade Stahlbaum och Houpt (1989) att hingstar kunde skilja på hästars kön med hjälp av feces men inte med hjälp av urin. I samma studie kunde hingstarna inte heller avgöra reproduktionscykelns status på stoet.

Flehmen

Flehmen är ett beteende som observeras hos många däggdjur (Lindsay and Burton, 1983; Marinier et al., 1988; Crowell-Davis & Houpt, 1985). Typiskt för detta beteende är att djuret står med öppen mun, sträcker och lyfter upp huvudet, andas in djupt samt

drar tillbaka överläppen och därmed rynkar nos och visar tandköttet. Troligtvis kan de djur som använder sig av flehmen på detta sätt analysera urin genom att stimulera vomeronasala organet eller luktmembranet i nosen.

I en studie med vildhästar observerades flehmen hos hingstar oavsett ålder men inte hos ston (Haupt, 1991). I en annan studie av Crowell-Davis & Haupt (1985) visades däremot att även ston använde sig av flehmen men att unghingstarna visade flehmen både i högre grad och oftare än både ungston och vuxna ston.

Flera studier har visat att hos flera djurslag sker vanligtvis flehmen först efter direktkontakt med urin via nos, läppar och/eller tunga (Crowell-Davis & Haupt, 1985, Ladewig & Hart, 1980). Hos hästar är det däremot visat att flehmen förekommer spontant av lukt och att direktkontakt med andra stimuli inte behövs (Lindsay & Burton, 1983, Crowell-Davis & Haupt, 1985). Detta kan bero på att hästarna har en annorlunda anatomi än andra djurslag, vad gäller vomeronasala organet.

I en studie av Anderson et al. (1996) såg man att antal och längd av flehmen var uttalat högre när hingsten både kunde se och lukta, men man ansåg att hingstens flehmenbeteende inte behövde vara sexuellt då hingstar visade flehmen även när bara en fantom fanns att lukta på.



Figur 4. Flehmen hos en av försökshästarna på Västerbo stuteri. Foto: Matilda Nilsson

Nosseekret

Lindsay & Burton (1983) visade att när häst- och åsnehingstar exponerades för urin sågs en riklig mängd sekret från nosen. De ansåg att detta nässekret kunde ha två viktiga funktioner, nämligen att fungera som transportmedel för luftburna ämnen och att rensa ut doften i vomeronasala kanalen, men dessa teorier kunde inte bekräftas.

SYFTE MED STUDIEN

Syftet med denna studie var att undersöka om hingstar kan känna skillnad på brunsturin och diöstrusurin och om det i så fall är *p-cresol* som får hingsten att bli sexuellt intresserad.

MATERIAL OCH METODER

Djurmateriel

I försöket användes fem varmblodiga travhingstar mellan 5 och 10 år i normalt hull, vilka stod uppstallade på ett stuteri i Mellansverige. Fyra av hingstarna har använts i avel. Försöket gjordes efter betäckningssäsongen i slutet av augusti 2010 och pågick under fem dagar. Tre av hingstarna stod i samma stall med en hel skiljevägg mellan boxarna. En hingst som ej använts för avel stod i ett stall cirka 10 meter därifrån och den hade under försöken ingen annan häst i angränsande box. Den femte hingsten stod i ett stall ca en km bort och var ensam i stallet vid tidpunkten för försöken. Hingstarna hade under försöksdagarna ordinarie rutiner för utsläpp och utfodring, men togs in lite tidigare än normalt pga. försöket. Under försöket pågick stuteriets ordinarie verksamhet vilket medförde att hingstarna då och då reagerade på förbipasserande hästar och människor.

Insamling av urin

Insamlingen av urin från sto gjordes i samarbete med en annan student som i sitt EEF-arbete undersökt innehåll av olika kemiska ämnen i urin och brunstsekret från sto.

Urinen samlades från brunstiga ston på institutionen för kliniska vetenskaper, avdelningen för reproduktion, SLU. För att avgöra vilka sto som var i brunst bedömdes brunstbeteende (förekomst av ståreflex, svanslyftning blinkning med klitoris och urinskvättning), genom teasing av stona med en hingst. Gynekologisk undersökning (rektalisering med ultraljud) gjordes för att bedöma äggstocksaktivitet. Urinen samlades vid spontankastning i öppna glaskärl och därefter fördes urinen över till glasbehållare för infrysning i -20°C. Samlingen av urin pågick från brunststart till och med ovulation. Diöstrusurin samlades ca en vecka efter ovulering från samma ston.

P-cresol

Den kemiska substansen *p-cresol* som användes i försöken var syntetiskt framställd och hämtades från Skolan för kemivetenskap, Institutionen för Kemi, KTH Stockholm.

Förberedelse av testsubstanserna

Brunsturin från 3 ston (dag 3-5 i brunsten) tinades i 36-gradigt vatten i cirka 45 min, poolades för att minimera den individuella variationen och frystes sedan ned igen. Diöstrusurin från 3 ston (4-9 dagar efter ovulation) tinades i 36-gradigt vatten i cirka 45 min och poolades sedan. Efter poolning av diöstrusurinen tillsattes 10µl *p-cresol* till halva volymen (20 ml) av urin och sedan frystes alla proverna på nytt i -20°C. 10µl *p-cresol* tillsattes också till destillerat vatten (20 ml) för att sedan frysas in i -20°C. Även destillerat vatten mättes upp i glasbehållare för att sedan frysas vid samma temperatur som de andra substanserna. Proverna kodades (a-e) för att de som gjorde det praktiska försöket inte skulle känna till innehållet.

Försöket

Substanserna

De frysta substanserna (brunsturin, diöstrusurin, diöstrusurin med p-cresol, destillerat vatten och destillerat vatten med p-cresol) förvarades vid transport till stuteri i en frigolitlåda med is för att vid ankomst tinas i cirka 37°C (kroppstemperatur hos häst) under cirka 15 min. En enskild substans användes för respektive dag (se schema) . Efter den praktiska delens avslut avkodades proverna.

Utrustning

I försöket användes platslevar med 29 cm långt skaft som rengjorts och därefter lindats in i dubbelt lager med aluminiumfolie. I slevan sattes en bomullsrondell fast med hjälp av ståltråd (figur 5a). 2,5 ml av den aktuella substansen droppades på bomullsrondellen inför varje försök med hjälp av en spruta. För varje hingst och provomgång användes en ny väl rengjord slev. Slevarna rengjordes med luktfritt diskmedel och sköljdes sedan med 70 % etanol och destillerat vatten för att därefter förberedas enligt ovan. Personen som vid försöket höll i slevan försågs med skyddskläder, skoskydd, handskar, och armskydd (tillverkat av liggunderlag, varje hingst hade ett eget skydd) samt ett tidtagarur (figur 5b). Timer förinställd på 5 minuter användes för tidtagning. Personen som höll substansen bytte handskar och armskydd mellan hingstarna och om hingstarna kom i kontakt med skyddskläder, skoskydd eller hårskydd byttes även dessa.



Figur 5a. Folieinlindad slev med bomullsrondell indränkt i provsubstans Figur 5b. Kristina Nordéus iklädd skyddsutrustning och redo för försöket. Foto: Matilda Nilsson

Exponering

Ordningen för exponeringen slumpades mellan fyra av hästarna medan den femte hästen togs sist på dagen varje dag då denna stod på en annan plats. Exponeringen pågick i 5 minuter per hingst. Vid varje försök noterades hingstarnas beteende avseende antal flehmen, utskäftning (graderad 0-3), sekretion från nos och mun (graderad 0-3), antal nosningar och tid hästen nosade på provet enligt protokoll (tabell 1). Personen som höll substansen var tidtagare och räknade antalet nosningar. Pga. personalbrist var det olika personer som skötte detta under försöksdagarna, men alla fick samma instruktioner.

Tabell 1. Beteendeprotokoll för varje försöksdag

Hingst	Substans	Ordning	Total nostid*	Antal nosningar	Antal flehmen	Sekretions-grad**	Utskäftnings-grad***
A							
B							
C							
D							
E							

* Total tid hingsten luktar på provet

** Ingen (0), lindrig (1), måttlig (2) eller kraftig (3) sekretion från nos och mun

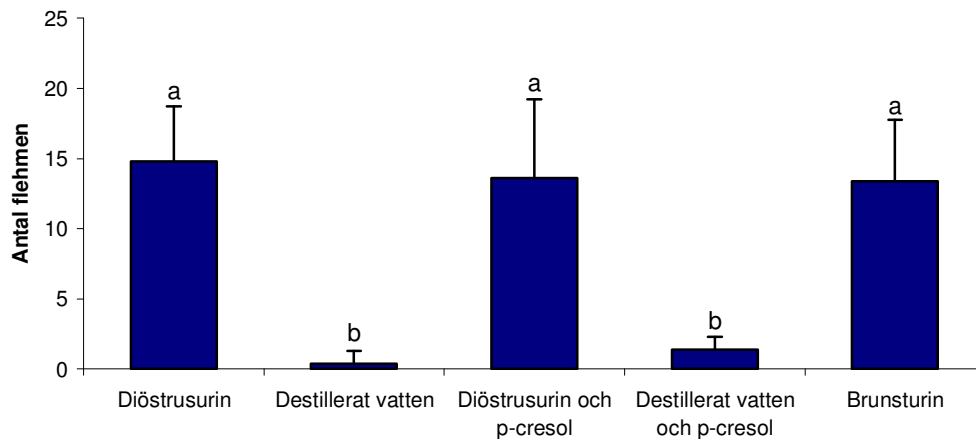
*** Skala 0-3 där 0: ingen, 1: 5-10 cm, 2: 10-20 cm och 3: >20 cm.

Statistiska analyser

Variationen i tiden hingsten nosade, antal nosningar samt antal flehmen analyserades med hjälp av variansanalys i SAS-programmet (SAS Inst. Inc., Cary, NC) enligt en statistisk modell som innehöll effekterna av substans och hingst. Inverkan av substans på intensitet av sekretion samt utskäftning analyserades med hjälp av X^2 -analys. Härvid grupperades sekretionsklass 2 och 3 ihop. Utskäftning behandlades i denna analys som en 0/1-variabel, utskäftning eller inte. Korrelation beräknades mellan tiden hingsten nosar, antal nosningar samt antal flehmen liksom mellan sekretionsklass och grad av utskäftning. Nils Lundeheim vid institutionen för husdjursgenetik var behjälplig med de statistiska analyserna.

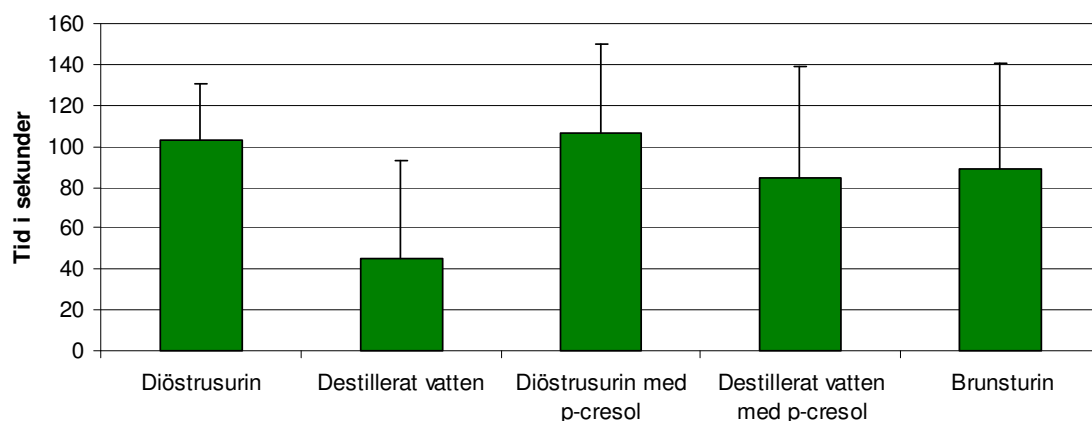
RESULTAT

Figur 6 visar att antal flehmen varierade med provsubstans. Antalet flehmen i korrigerat medelvärde var högre när provsubstansen innehöll urin till skillnad från när provsubstansen innehöll destillerat vatten. Av figuren framgår också att skillnaden i antalet flehmen mellan de olika substanserna som innehöll urin var mycket liten. Skillnaden mellan destillerat vatten och urin var signifikant ($p < 0,0001$).



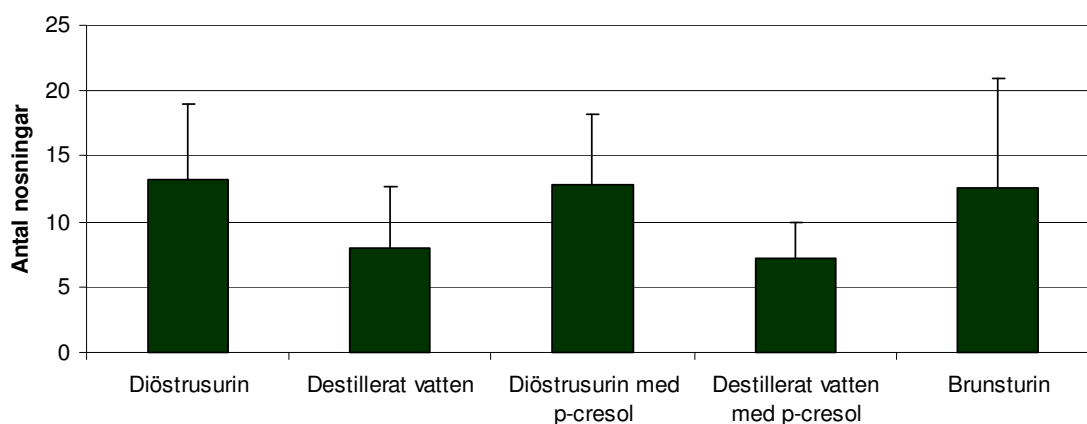
Figur 6. Antal flehmen i korrigerat medelvärde för respektive provsubstans. Bokstäverna a och b indikerar statistisk signifikans ($p < 0,0001$) mellan dessa staplar. De vertikala linjerna representerar standardavvikelsen, SD. $n=25$

Figur 7 visar att tiden hingstarna nosade på provet (korrigerat medelvärde \pm SD) varierade med provsubstans. Tiden en hingst nosade på provet i korrigerat medelvärde var längre när provsubstansen innehöll urin jämfört med när provsubstansen innehöll destillerat vatten. Av figuren framgår att skillnaden i tid mellan de olika urinsubstanserna var liten samt att skillnaden mellan destillerat vatten med *p-cresol* och övriga urinsubstanser också var liten. Skillnaden mellan destillerat vatten och urin var inte statistiskt signifikant ($p=0,34$). Därmed gjordes inga parvisa jämförelser mellan de enskilda substanserna.



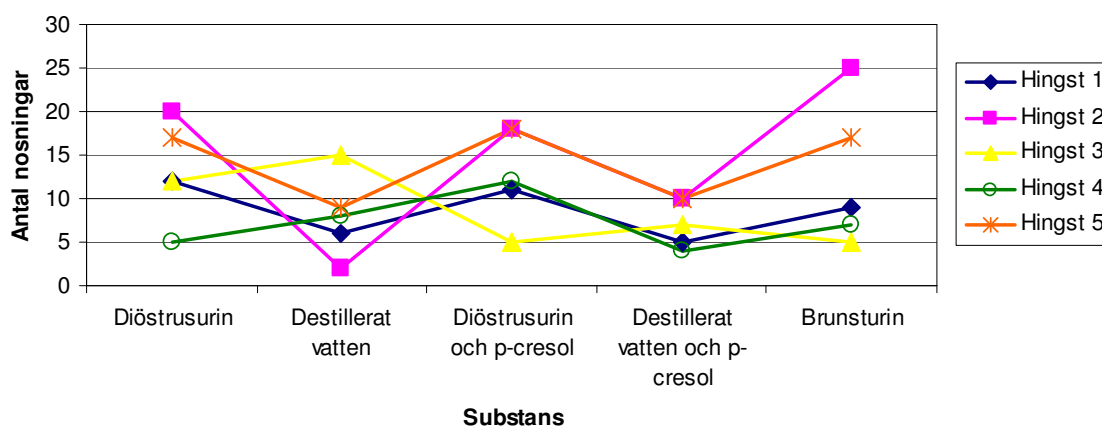
Figur 7. Tid hingstarna nosade på provet i korrigerat medelvärde för respektive provsubstans. De vertikala linjerna representerar standardavvikelsen, SD. $n=25$

Figur 8 visar att antalet nosningar varierade med provsubstans. Antalet nosningar i korregerat medelvärde var högre när provsubstansen innehöll urin till skillnad från när provsubstansen innehöll destillerat vatten. Av figuren framgår också att skillnaden i antalet nosningar mellan de olika substanserna innehållande urin var mycket liten. Det framgår också att skillnaden i antalet nosningar mellan de två substanserna som innehöll destillerat vatten var liten. Skillnaden mellan destillerat vatten och urin var inte statistiskt signifikant ($p=0,19$).

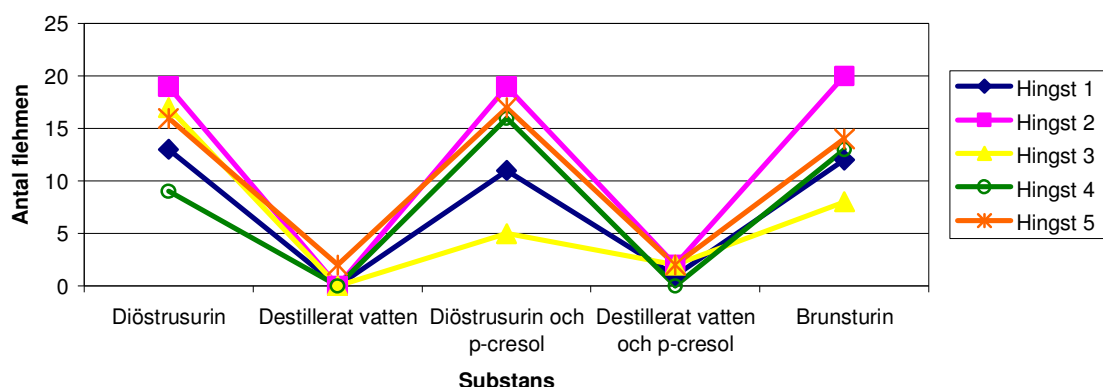


Figur 8. Antal nosningar i korregerat medelvärde för respektive provsubstans. De vertikala linjerna representerar standardavvikelsen, SD. $n=25$

Figur 9 och 10 visar resultatet för antalet nosningar respektive antalet flehmen hos respektive hingst vid exponering för de olika provsubstanserna. Vid exponering av diöstrusurin varierade antalet nosningar mellan 5 och 20 stycken, vid destillerat vatten mellan 2 och 15 stycken, vid diöstrusurin med *p-cresol* mellan 5 och 18 stycken, vid destillerat vatten med *p-cresol* mellan 5 och 10 stycken och slutligen vid exponering av brunsturin mellan 5 och 25 nosningar (figur 9). Antalet flehmen vid exponering av diöstrusurin varierade mellan 9 och 19 stycken, vid destillerat vatten mellan 0 och 2 stycken, vid diöstrusurin med *p-cresol* mellan 5 och 18 stycken, vid destillerat vatten med *p-cresol* mellan 4 och 10 flehmen och slutligen vid exponering av brunsturin mellan 8 och 20 flehmen.

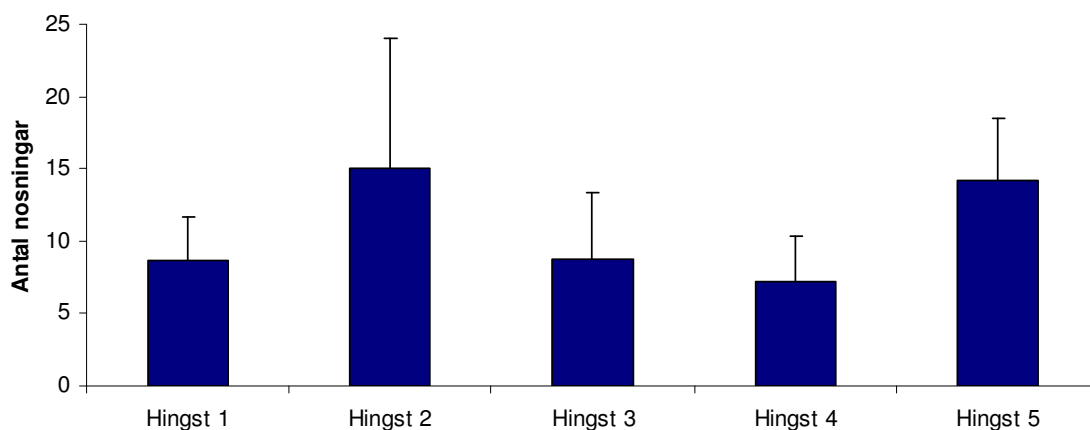


Figur 9. Antal nosningar hos respektive hingst vid exponering för de olika substanserna. $n=5$

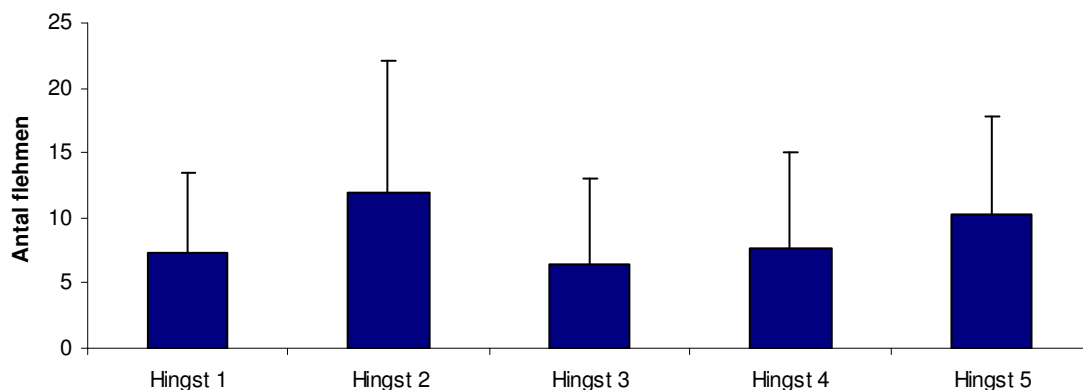


Figur 10. Antal flehmen hos respektive hingst vid exponering för de olika substanserna. $n=5$

Figur 11 visar antal nosningar i korrigerat medelvärde uppdelat per hingst och alla provsubstanser sammantaget. Av figuren framgår att antal nosningar mellan de olika hingstarna varierade. Störst skillnad sågs mellan hingst 2 med högst antal (15) och hingst 4 med lägst antal (7,2). Det fanns en tendens till signifikant skillnad mellan hingstarna vad gäller antalet nosningar i korrigerat medelvärde ($p=0,07$). Figur 12 visar antal flehmen i korrigerat medelvärde uppdelat per hingst och alla provsubstanser sammantaget. Av figuren framgår att antal flehmen mellan de olika hingstarna varierade. Störst skillnad sågs mellan hingst 2 med högst antal (12) och hingst 3 med lägst antal (6,4). Det fanns en tendens till inverkan av hingst på antalet flehmen i korrigerat medelvärde ($p=0,07$).



Figur 11. Antal nosningar i korrigerat medelvärde för respektive hingst, alla substanserna sammanräknade. De vertikala linjerna representerar standardavvikelsen, SD. $n=5$



Figur 12. Antal flehmen i korrigerat medelvärde för respektive hingst, alla substanserna sammanräknade. De vertikala linjerna representerar standardavvikelsen, SD. n=5

Frekvensanalyserna visade ingen signifikant skillnad mellan hingstarna vare sig på grad av sekretion eller för grad av utskäftning. Tendensen ($p=0,14$) var dock densamma som för antal flehmen, dvs. att när hingstarna exponerades för urin hade fler hingstar högre sekretion än när de exponerades för destillerat vatten (tabell 2). Sekretionsgrad 2 och 3, dvs. måttlig och lindrig sekretion, har slagits samman till sekretionsklass 2 vid frekvensanalysen.

Tabell 2. Antalet hingstar i varje sekretionsklass vid exponering för respektive provsubstans

	Sekretionsklass		
	0	1	2
Diöstrusurin	0	2	3
Destillerat vatten	4	1	0
Diöstrusurin med <i>p-cresol</i>	1	2	2
Destillerat vatten med <i>p-cresol</i>	3	2	0
Brunsturin	1	1	3

Signifikant numeriskt positiv korrelation observerades mellan tiden hingsten nosade, antal nosningar och antal flehmen. Likaså observerades signifikant positiv korrelation mellan sekretionsklass (0-3) och antal flehmen, samt mellan sekretionsklass (0-3) och grad utskäftning (0-3) (tabell 3).

*Tabell 3. Signifikant positiva korrelationer mellan tiden hingstarna nosade, antal nosningar, antal flehmen, sekretionsklass och grad av utskäftning. Signifikant positiv korrelation * står för $p=0,0003$, ** står för $p=0,0038$, *** står för $p<0,0001$, **** står för $p=0,0045$, ***** står för $p=0,0060$; n.s ej signifikant*

Parameter	Nostid	Antal nosningar	Antal flehmen	Sekretion
Antal nosningar	+0,66 [*]	-	-	-
Antal flehmen	+0,56 ^{**}	+0,73 ^{***}	-	-
Sekretion	+0,21 ^{n.s.}	+0,33 ^{n.s.}	+0,55 ^{****}	-
Utskäftning	- 0,03 ^{n.s.}	+0,17 ^{n.s.}	+0,18 ^{n.s.}	+0,53 ^{*****}

DISKUSSION

Syftet med denna studie var att undersöka om hingstar känner skillnad på brunsturin och diöstrusurin och om *p-cresol* är en kemisk substans som kan stimulera hingstars sexuella beteende.

Vi fann i studien signifikant inverkan av substans på antal flehmen dvs. att antalet flehmen ökade signifikant beroende på vilken substans som presenterades för hingsten. Intressant doft, här i form av urin, gav ökande antal flehmen. Hingstarna gjorde ingen skillnad mellan de olika urinsubstanserna, brunsturin och diöstrusurin med eller utan *p-cresol*. Att hingstar inte gör skillnad på brunsturin och diöstrusurin har även visats i en tidigare studie (Marinier et al. 1988).

Vi fann i vår studie signifikant positiv korrelation mellan tiden hingsten nosade, antal nosningar och antal flehmen. Tänkbara förklaringar till ett samband mellan nostid och antal nosningar är att ju tidigare de börjar nosa desto fler nosningar hinner de med eller ju intressantare det luktar desto längre luktar de och desto fler gånger vill de lukta. Under försökets gång observerades att det i princip kom en flehmen efter varje nosning. Enligt Lindsay & Burton (1983) sågs en sekretion från nosen när hingstar exponerades för urin. I denna studie fanns en signifikant positiv korrelation mellan sekretionsgrad och antal flehmen, samt mellan sekretionsgrad och grad utskäftning. Sambandet mellan sekretionsgrad och antal flehmen skulle kunna förklaras av att intressanta dofter ger både fler flehmen och ökad grad av sekretion eller att ökat antal flehmen i sig gör att sekretionen ökar. En förklaring till sambandet mellan sekretionsgrad och grad av utskäftning kan vara att ökad upphetsning ger både ökad grad av sekretion och ökad grad av utskäftning.

Anderson et al. (1996) visade i en studie att antalet flehmen ökade när man exponerade hingstarna för brunsturin men endast i de fall då hingsten även kunde se ett sto som visade brunst (ståreflex, höjd svans och blinkande med klitoris). En anledning till att hingstarna i denna studie inte gjorde skillnad på de olika cykelstadierna i urin skulle alltså kunna vara att ett sto behöver finnas i närheten för optimal stimulans och att hingsten även påverkas av andra sinnen än luktsinnet, exempelvis hörsel och syn, vilket tidigare visats av Anderson et al. (1996). Inläring har också betydelse eftersom det för tränade avelshingstar med god könsdrift endast behövs en fantom för att få till en lyckad spermiesamling. Det kan därför vara svårt att utreda betydelsen av olika stimuli om man inte använder sexuellt oerfarna hingstar. I studien av Anderson et al. (1996) bör noteras att lukten faktiskt kan tränga igenom det man täckt nosen med, så det är svårt att bevisa att man verkligen lyckats stänga kemiska substanser ute, då de sprids lätt. I samma studie antyder man att flehmenbeteendet hos hingstar inte behöver ha sexuell anknytning då hingstar kan visa flehmen när endast en fantom finns närvarande. I dessa fall skulle det kunna bero på att det finns lukter kvar på fantomen som utlöser flehmen hos hingsten eller att betäckningssituationen i sig utlöser ett visst beteende. Beteendet kan även i dessa fall vara inlärt.

I denna studie visade hingstarna inget intresse för destillerat vatten med tillsats av *p-cresol*. Kimura (2001) visade att *p-cresol* finns i urinen hos hästar av båda könen, men att koncentrationen var signifikant högre hos hingstar än hos ston under samma period. Dessutom var *p-cresol*/koncentrationen hos ston i brunst signifikant lägre än hos ston i diöstrus. Dessa resultat tyder på att *p-cresol* inte är det ämne som gör att hingstarna

känner skillnad på brunsturin och diöstrusurin. I en opublicerad studie från Litauen användes destillerat vatten, anöstrusurin och anöstrusurin med *p-cresol* och man fann att erektionsgraden på hingstar var som högst när hingstarna fick nosa på anöstrusurin med *p-cresol*. I Litauen gjordes alltså inga försök med brunsturin. Kimura (2001) fann att *p-cresol*koncentrationen under anöstrala säsongen var flera gånger högre hos hingstar än hos ston. Att man i den litauiska studien fick positiv respons på hingstarnas erektionsgrad vid tillsats av *p-cresol* kan bero på att mängden *p-cresol* i den anöstrala urinen uppnådde samma nivå som hos ston under avelssäsongen dvs. när de är i brunst och diöstrus. Under anöstrala perioden hos ston är hormonnivåerna i blodet som lägst, vilket kan påverka urinens sammansättning. Parallellt med min studie gjordes en studie om kemiska substanser i stourin där innehållet analyserades med hjälp av SPME (Solid-phase microextraction). Resultatet visade att *p-cresol* fanns i något högre koncentration i brunsturin än i diöstrusurin men p.g.a. för få prover med diöstrusurin blev skillnaden inte signifikant (Axelsson, 2010). Detta tyder dock på att *p-cresol* fanns i olika mängd i substanserna i denna studie och det talar mot att det skulle finnas större mängd *p-cresol* i diöstrusurin än i brunsturin som Kimura (2001) angivit. Trots att det fanns ökad mängd *p-cresol* i brunsturinen fann vi ingen signifikant skillnad på hingstarnas beteende vad gäller brunsturin och diöstrusurin. *P-cresol* tycks sålunda inte vara "feromonsubstansen" i brunsturin. Det kan dock inte uteslutas att *p-cresol* tillsammans med andra komponenter i urinen kan ha feromoneffekt. Sankar & Archunan (2008) identifierade tre för ko brunstspecifika kemiska substanser i urin respektive träck. Man konstaterade i studien att blandningen av dessa tre substanser gav högre frekvens av parningsbeteende än när tjurarna endast exponerades för en substans i taget, vilket tyder på att flera ämnen kan interagera för att få fram parningsbeteendet hos handjur. Detta skulle kunna vara en annan anledning till varför vi inte fick fram något sexuellt intresse hos hingsten, vilket skulle behöva undersökas vidare.

I vår studie sågs stor mängd nossekret och ökad salivering hos framförallt en av hingstarna vid exponering för urin. Lindsay & Burton (1983) föreslog att sekret från nosen hade två viktiga funktioner, nämligen att fungera som transportmedel till luftburna ämnen och att ta bort doften i vomeronasala kanalen. Det skulle vara intressant att gå vidare med detta för att ta reda på vilken funktion detta nosflöde och salivering verkligen har.

I denna studie fanns en del faktorer som kan ha påverkat resultatet i studien. Alla hingstar utom en var var sexuellt erfarna, dvs. avelshingstar. En av hingstarna hade aldrig betäckt något sto, men de värden vi fick på denne hingst skilde sig inte från övriga hingstar. Om endast sexuellt oerfarna hingstar hade använts, skulle resultatet möjligen ha blivit annorlunda. Under försöksveckan hjälpte olika personer till med tidtagning och att räkna antalet nosningar, vilket kan ha påverkat resultatet. Vi observerade att ju fler gånger hingstarna testades med substanser, desto mer lekfulla blev vissa, dvs. en s.k. novel effect som klingar av. Detta beteende var individuellt, dvs. varierade mellan hingstarna. Det ledde med största sannolikhet till färre antal nosningar och färre antal flehmen, men längre lukttid. Studien utfördes på ett stuteri med mycket liv och rörelse, vilket gjorde att olika störningsmoment var omöjligt att undvika. Olika personer och hästar rörde sig utanför stallen och detta kan ha påverkat beteendet som registrerades.

Vid en ny studie vore det önskvärt att öka antalet hingstar och de bör vara uppstallade på samma sätt så att lika förutsättningar föreligger. Man bör även inkludera både

oerfarna hingstar och avelshingstar, samt undersöka huruvida närvaro av sto kan påverka beteendet genom syn, lukt och hörsel. Dessutom skulle det vara av värde att utföra försök både under och efter avelssäsong för att därigenom kunna undersöka betydelsen av hormonnivåer och urinsammansättning hos stoet under olika delar av året. Hos vildhästar har stoets beteende mycket större betydelse. Samspelet mellan sto och hingst är hos dem en förutsättning för att sprida generna vidare, till skillnad från i dagens avel där det knappt sker någon kontakt mellan sto och hingst.

SLUTSATSER

Hingstar kan enligt vår studie inte känna skillnad på brunsturin och diöstrusurin. Det tycks inte heller vara endast *p-cresol* som gör hingsten sexuellt intresserad.

Ytterligare studier är av intresse då man i denna studie inte helt kan utesluta att *p-cresol* är ett ämne med feromoneffekt, men att det kräver andra ämnen för att få optimal sexuell respons från hingstarna.

TACK

Jag vill tacka alla som hjälpt mig:

Min handledare Anne-Marie Dalin för all hjälp med försöket samt med sammanställningen av arbetet samt för goda råd vid författandet.

Min biträdande handledare Kristina Nordéus för tips, idéer, hjälp med artikelsök, planering och genomförande av försöket samt för den glädje och det engagemang och tålamod hon visat.

Nils Lundeheim för ovärderlig hjälp med statistiska analyser och nyttiga förklaringar.

Susanne Demmers, Carola Jansson, Kerstin Berglund och Pernilla Lindberg för tidtagning, räknehjälp och substanshållning vid försöken.

Stuteri med personal för lån av hingstar och för uppassning vid behov.

Lena Axelsson för gott samarbete vid insamling av substanser.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Anderson, T. M., Pickett, B. W., Heird, J. C., Squires, E. L. (1996) Effect of blocking vision and olfaction on sexual responses of haltered or loose stallions. *Journal of Equine Veterinary Science* 16, 254-261.
- Axelsson, L. (2010) Kemisk kommunikation hos häst, SLU, EEF arbetet.
- Brennan, P. A., Keverne, E. B. (2004) Something in the air? New insight into mammalian pheromones. *Curr. Biol.* 14, R81-R89.
- Campbell, N.A., Reece, J. B., Mitchell, L. G., Taylor, M. R. (2003) Reproductive barriers keep species separate. In: *Biology Concepts & Connections*, 4th ed. Benjamin Cummings. 284-285.
- Crowell-Davis, S., Houpt, K. A. (1985) The ontogeny of flehmen in horses. *Anim. Behav.* 33, 739-745.
- Edqvist, L-E., Stabenfeldt, G. H., (1989) Clinical Reproductive Endocrinology. In: Kaneko, Jiro J. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 4th ed. Academic Press, Inc. 660.
- Ferrero, D. M., Liberles, S. D. (2010) The secret codes of mammalian scents. *Syst Biol Med* 2, 23-33.
- Ginther, O.J. (1992a) Sexual behaviour. In: *Reproductive biology of the mare*, 2nd ed. Equiservices. 77.
- Ginther, O.J. (1992b) Anovulatory season. In: *Reproductive biology of the mare*, 2nd ed. Equiservices. 135, 143.
- Ginther, O.J. (1992c) Characteristics of the ovulatory season. In: *Reproductive biology of the mare*, 2nd ed. Equiservices. 210-211.
- Houpt, K.A. (1991) Investigating equine ingestive, maternal, and sexual behaviour in the field and in the laboratory. *J. Animal Sci.* 69, 4161-4166.
- Izard, M. K. (1983) Pheromones and reproduction in domestic animals. In: Vandenberg, J. G. (Ed.), *Pheromones and reproduction in mammals*. Academic press, New York. 253-285.
- Kemp, B., Soede, N. M., Langendijk, P. (2005) Effects of boar contact and housing conditions on estrus expression in sows. *Theriogenology* 63, 643-656.
- Kiley-Worthington, M. (1997) Visual Communication. In: *The behaviour of horses*. J. A. Allen & Company Limited. 90-93.
- Kimura, R. (2001) Volatile substances in feces, urine and urine-marked feces of feral horses. *Canadian journal of animal science* 81, 411-420.
- Ladewig, J & Hart, B. L. (1980) Flehmen and Vomeronasal Organ Function in Male Goats. *Physiology and Behavior*. Pergamon Press and Brain Research 24, 1067-1071.
- Lindsay, Flora E. F., Burton, F. L. (1983) Observational study of "urine testing" in the horse and donkey stallion. *Equine vet. J.* 15, 330-336.
- Ma, W., Klemm, W. R. (1997) Variations of equine urinary volatile compounds during the oestrous cycle. *Veterinary Research Communications* 21, 437-446.
- Marinier, S. L., Alexander, A. J., Waring, G. H. (1988) Flehmen Behaviour in the Domestic Horse: Discrimination of Conspecific Odours. *Applied Animal Behaviour Science* 19, 227-237.
- McDonnell, S. M. (2000) Reproductive behaviour of stallions and mares: comparison of free-running and domestic in-hand breeding. *Animal Reproduction Science* 60-61, 211-219.

- McDonnell, S. M., Murray, S. C. (1995) Bachelor and harem stallion behavior and endocrinology. *Biol Repro Mono* 1, 577-590.
- Nishimura, K., Utsumi, K., Okano, T., Iritani, A. (1991) Separation of mounting-inducing pheromones of vaginal mucus from estrual heifers. *J. Anim. Sci.* 69, 3343-3347.
- Rekwot, P. I., Ogwu, D., Oyedipe, E. O., Sekoni, V.O. (2001) The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *J. Animal Sci.* 65, 157-170.
- Sankar, R., Archunan, G. (2008) Identification of putative pheromones in bovine (*Bos Taurus*) faeces in relation to estrus detection. *Animal Reproduction Science* 103, 149-153.
- Shorey, H. H. (1973) Behavioral responses to insect pheromones. *Annu. Rev. Entomol.* 18, 349-380.
- Stahlbaum, C. C., and Houpt, K. A. (1989) The role of the flehmen response in the behavioural repertoire of the stallion. *Physiology & Behavior*, 45, 1207-1214.
- Tirindelli, R., Dibattista, M., Pifferi, S., Menini, A. (2009) From pheromones to behavior. *Physiol Rev* 89, 921-956.